

# ČINITELJI BAKTERIJE I DOMAĆINA U PATOGENEZI LISTERIOZE

## HOST AND BACTERIAL FACTORS IN PATHOGENESIS OF LISTERIOSIS

Marina Bubonja<sup>1</sup>, Darinka Vučković<sup>1</sup>, Roberta Rubeša-Mihaljević<sup>1</sup>, Maja Abram<sup>1</sup>

### SAŽETAK

Listerioza jest zoonoza do koje u većem broju slučajeva dolazi nakon konzumacije zagađenih namirnica. U zdravih odraslih osoba infekcija bakterijom *Listeria monocytogenes* posljeduje prolaznom, asimptomatskom kolonizacijom crijeva, ili slikom neinvazivna febrilnoga gastroenteritisa. Infekcija fetusa, novorođenčeta, ili imunokompromitirane osobe, može posljediti razvojem invazivne infekcije praćene visokim postotkom smrtnosti. Zbog svojstva unutarstaničnoga parazitiranja, bakterija *Listeria monocytogenes* dugi se niz godina koristi kao oruđe za proučavanje stanične biologije i mehanizama stanične imunosti.

**Ključne riječi:** *Listeria monocytogenes*, listerioza, miševi, patogeneza

### ABSTRACT

Listeriosis is a zoonosis usually transmitted through contaminated food or vertically from mother to foetus. In an immunocompetent, adult person the infection results in transitory asymptomatic gastrointestinal colonisation or febrile, non-invasive gastroenteritis. The infection of the foetus, newborn or immunocompromised person can result in a serious invasive disease with high mortality rate. As a facultative intracellular pathogen, *Listeria monocytogenes* is widely used as model for studying cellular biology and mechanisms of cellular immunity.

**Key words:** *Listeria monocytogenes*, listeriosis, mice, pathogenesis

### UVOD

*Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) jest gram-pozitivna, nesporogena, fakultativno anaerobna bakterija. Raste na uobičajenim hranilištima, a na krvnome agaru tvori beta-hemolizu, za razliku od nepatogenih sojeva koji nemaju tu sposobnost. Izrazito je otporna na nepovoljne uvjete okruženja, te je kao saprofit široko rasprostranjena u okolišu – u tlu, površinskim vodama, biljkama i silaži. Inficira 50-tak različitih životinjskih vrsta: U ljudi,

bakterija se najčešće unosi u organizam preko kontaminiranih namirnica. Smatra se da domaće životinje, odnosno preživači, održavaju ciklus kruženja listerije u prirodi fekalno-oralnom kontaminacijom tla<sup>1</sup>.

*L. monocytogenes* prepoznata kao važan patogen u ljudi i u životinja, u zadnja dva desetljeća postala je predmetom zanimanja medicinske, veterinarske i prehrambene mikrobiologije. Obilježja poput razmnožavanja unutar velikoga raspona pH-a (4,3 – 9,6) i temperature (1 – 45°C), te izrazita otpornost prema visokim koncentracijama NaCl-a (do 12%), omogućuju listeriji preživljavanje različitih postupaka koji se koriste tijekom obrade namirnica. Navedeno, uza sposobnost razmnožavanja na temperaturama skladištenja (+4°C), uzrokuje velik problem prehrambenoj industriji, te potencijalnu

<sup>1</sup> Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Primljeno: 2. 3. 2007.

Prihvaćeno: 28. 3. 2007.

Adresa za dopisivanje: mr. sc. Marina Bubonja, dr. med., Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet Rijeka, Braće Branchetta 20, 51000 Rijeka, tel.: 051 651 172, e-mail: mbubonja@medri.hr

opasnost za ljudsko zdravlje<sup>2</sup>. U pokušaju da smanji, odnosno eliminira prisutnost listerije u namirnicama, američka Agencija za hranu i lijekove (Food and Drug Administration, FDA) u kolovožu 2006. prvi je put odobrila korištenje listerija specifičnih bakteriofaga kao aditiva mesnim prerađevinama koje se konzumiraju bez dodatne termičke obrade<sup>3</sup>.

## EPIDEMIOLOGIJA I KLINIČKA SLIKA LISTERIOZE

Iako je *L. monocytogenes* odavna prepoznata kao humani patogen, tek je ranih 80-tih godina 20. stoljeća uočeno da je kontaminirana hrana glavni put prijenosa te bakterije iz okoliša u ljude<sup>4</sup>. Klinička slika bolesti koje uzrokuje *L. monocytogenes* ovisi o osjetljivosti domaćina, te serotipu i broju unijetih bakterija. Javnozdravstvena važnost listerioze često je podcijenjena zbog toga što je ta bolest izrazito rjeđa od svih akutnih infektivnih bolesti koje se prenose hranom, primjerice salmoneloze ili kampilobakterioze. Međutim, važno je istaknuti da se među infekcijama koje se prenose hranom, listerioza svrstava u bolesti s najčešćim smrtnim ishodom. Prosječna godišnja incidencija listerioze u većini zemalja unutar Europske zajednice, kreće se od dva prijavljena slučaja do deset prijavljenih slučajeva na milijun stanovnika<sup>5</sup>. U istraživanju provedenome na području Hrvatske, *L. monocytogenes* izolirana je u 4,27% uzoraka kolača uzorkovanih u ugostiteljskim objektima tijekom godine dana, a autori ističu da su izolirani serotipovi i količina bakterija u pregledanim kolačima imali visok potencijalni rizik za infekciju u ljudi<sup>6</sup>. U našoj su zemlji također provedena istraživanja na domaćim nepasteriziranim mliječnim proizvodima, i *L. monocytogenes* pronađena je u 13,39% pregledanih uzoraka<sup>7</sup>, a izolirana je i iz 3,03% uzoraka svježega i smrznutoga mesa peradi<sup>8</sup>. Izolacija bakterije iz smrznute hrane upućuje na činjenicu da *L. monocytogenes* može podnijeti i zamrzavanje.

Infektivna doza listerije za ljude nije pouzdano utvrđena. Podaci sakupljeni nakon nekoliko većih epidemija listerioze, ukazuju na vrijednosti od  $10^7$  do  $10^{11}$  CFU-a (engl. colony forming units) po gramu namirnice u imunokompetentnih osoba<sup>9,10</sup>, ali razvoj bolesti moguć je i nakon unosa nižih infektivnih doza<sup>11</sup>. U Finskoj<sup>12</sup>, bolnička epidemija listerioze uzrokovana je malim brojem bakterija koje su oboljeli unosili u organizam preko kontaminirane hrane, i to višeput tijekom nekoliko

dana. Našim je pokusima unutargastričnom infekcijom laboratorijskih životinja, potvrđena mogućnost kumulativna učinka niske infektivne doze listerije<sup>13</sup>.

Uobičajeno, infekcije listerijom u ljudi pojavljuju se sporadično, ali zabilježene su i mnogobrojne epidemije. Između trinaest poznatih serotipova bakterije, kao uzročnici bolesti najčešće se izoliraju serotipovi 4b, 1/2a i 1/2b<sup>14,15</sup>. Smatra se da ljudi tijekom života hranom više puta unesu bakteriju *L. monocytogenes* u probavni sustav. Nakon ingestije kontaminiranih namirnica dolazi do kolonizacije crijeva domaćina koja obično prolazi bez simptoma bolesti, a rezultati istraživanja ukazuju na to da približno 5% ljudi nosi listeriju kao prolaznu floru probavnoga sustava<sup>16</sup>. Unos većega broja bakterija u probavni sustav, može dovesti do pojave neinvazivna febrilnoga gastroenteritisa u inače zdravih, imunokompetentnih osoba<sup>9,17</sup>. Listerijski gastroenteritis u većem broju slučajeva traje približno dva dana, te potom prolazi bez ozbiljnijih posljedica. Nije poznat mehanizam kojim ta bakterija uzrokuje gastroenteritis. Nije utvrđeno ni to da listerija proizvodi enterotoksin, stoga je bolest najvjerojatnije posljedica izravne invazije sluznice. Budući da se *L. monocytogenes* rutinski ne traži u stolici, nije poznato koliko se ukupnih slučajeva gastroenteritisa može pripisati infekciji tom bakterijom.

U posebno osjetljivih pojedinaca poput imunokompromitiranih bolesnika, starijih osoba, trudnica, te fetusa, prodor bakterije kroza crijevnu sluznicu može posljediti bakterijemijom i razvojem sustavne infekcije. *L. monocytogenes* ima naglašen afinitet spram određenih tkiva poput moždanih ovojnica i posteljice. Zbog toga su u sustavnoj listeriozi dominantni klinički oblici bolesti infekcija središnjega živčanoga sustava (SŽS), odnosno diseminirana infekcija ploda, ako je do infekcije došlo tijekom trudnoće. Dok je inkubacijsko razdoblje za razvoj gastrointestinalnih simptoma kratko (približno 24 h), do razvoja sepse i meningoencefalitisa dolazi nakon relativno dugoga inkubacijskoga razdoblja (više od 3 mjeseca). Sustavna listerioza ozbiljna je bolest, i jedna je od najsmrtonosnijih bakterijskih infekcija. Prosječni postotak smrtnosti u liječenih bolesnika iznosi 20 – 30%, a u neličenih je osoba još veći<sup>18</sup>.

Iako su zabilježeni i čisti meningealni oblici bolesti, listerioza središnjega živčanoga sustava (SŽS) češće se očituje slikom meningoencefalitisa. Uza smetnje svijesti i koordinacije, u određenoga broja oboljelih dolazi i do paralize kranijalnih živaca. Listerijski meningitis ne razlikuje se od bilo

koga drugoga gnojnoga meningitisa, a čisti encefalitični oblici rijetki su u ljudi, ali česti su u životinja. Listerijski encefalitis najčešće ima dvofazni tijek, s početnom subfebrilnom fazom koja traje od tri do deset dana, i u kojoj može doći do glavobolje i poremećaja vida. Potom slijedi druga faza sa znacima ozbiljna rombencefalitisa. Sljedeći čest oblik listerioze jest sepsa koju u bolesnika s predležecom bolesti obilježuje vrlo visoki postotak smrtnosti (70%). U 5 – 10% slučajeva, listerioza se pojavljuje u manje tipičnim oblicima, poput primjerice endokarditisa, arteritisa, pneumonije, pleuritisa, hepatitisa, peritonitisa, lokaliziranih apscesa, artritisa, osteomijelitisa, konjunktivitisa, primarne kožne listerioze<sup>18</sup>.

Trećina svih slučajeva listerioze pojavljuje se u trudnica u kojih je rizik za obolijevanje dvadesetak puta veći u odnosu prema zdravim odraslim osobama. Infekcija u trudnice najčešće prolazi neprepoznata, iako se može očitovati nespecifičnim, blažim simptomima bolesti. Prema jednome istraživanju, 65% bolesnica ima povišenu temperaturu, 32% pokazuje stanje nalik gripi, 21,5% ima bolove u križima, 10,5% ima glavobolju, a 29% trudnica nema simptome bolesti<sup>19</sup>. Trudnoća može završiti pobačajem, preranim rođenjem mrtvorodenčeta, ili rođenjem zaražena čeda.

Ovisno o tomu je li do infekcije došlo u trudnoći, tijekom trudnoće ili nakon porođaja, infekcije u novorođenčadi mogu se podijeliti na rane i na kasne. Ako je do infekcije došlo tijekom trudnoće, bolest se u novorođenčeta može očitovati odmah nakon rođenja septičnim oblikom bolesti (sindrom *granulomatosis infantiseptica*). Kasna novorođenačka listerioza očituje se u novorođenčeta tijekom prvoga do trećega tjedna, te vjerojatno nastaje kao posljedica udisanja kontaminirane plodne vode ili majčinih sekreta tijekom porođaja. Kasna novorođenačka listerioza češće se očituje kao febrilni sindrom praćen meningitisom, a u određenome broju slučajeva kao gastroenteritis i pneumonija. Iako je postotak smrtnosti kasne novorođenačke listerioze (do 20%) niži u odnosu prema kongenitalnoj infekciji (30%), posljedice kasne listerioze poput hidrocefalusa i psihomotorne retardacije, mogu biti teške i trajne<sup>20</sup>.

Zadnjih godina na području Rijeke zabilježeno je nekoliko slučajeva invazivne listerioze, uglavnom listerijskoga meningoencefalitisa u starijih osoba. Listerioza u trudnica zabilježena je u manjemu broju. U prošlogodišnjem slučaju (2006.), bolest se očitovala kao upala pluća u posljednjem tromjesečju trudnoće. Nakon što je u hemokulturi dokazana

bakterija, prilagođena je antibiotska terapija i inducirano je rađanje djeteta. Unatoč makroskopski vidljivim patološkim promjenama na posteljici (makroapscesi), nije došlo do infekcije čeda. Retrogradnom petogodišnjom analizom uzoraka placenta s jednakom patohistološkom dijagnozom, potvrđen je imunohistokemijski još jedan slučaj listerioze u trudnice. Ta je trudnoća posljedom rođenjem teško bolesnoga čeda koje je umrlo ubrzo nakon rođenja, a u uzorcima tkiva mozga novorođenčeta dokazana je listerija (neobjavljeni podaci). Budući da se *L. monocytogenes* rutinski ne dokazuje u posteljici i spontano pobačenim fetusima, nije poznato koliko se ukupnih slučajeva pobačaja može pripisati infekciji tom bakterijom.

Listerioza u domaćih životinja velik je gospodarski problem. U prvome redu listerioza je bolest preživača, poglavito ovaca, ali obolijevaju i druge životinje. Jednako kao i u ljudi, bolest se u životinja češće pojavljuje sporadično. Na području sjeverozapadne Hrvatske, zabilježene su epizootije listerioze na farmi krava<sup>21</sup>, te na farmi činčila<sup>22</sup>.

## POKUSNI MODELI LISTERIOZE

Uspostavljanjem mnogobrojnih modela *in vitro* i *in vivo*, *L. monocytogenes* postala je jedna od vodećih bakterijskih modela za proučavanje stanične imunosti na fiziološkoj, staničnoj i molekularnoj razini<sup>23,24</sup>. *L. monocytogenes* sposobna je invadirati neuobičajeno širok raspon životinjskih stanica, uključujući makrofage i neprofesionalne fagocite. Za proučavanje patogeneze listerioze, koriste se različite stanične crte. Humana enterocitna stanična crta Caco-2, često je korišten model *in vitro* za proučavanje invazije i unutarstaničnoga umnožavanja bakterije *L. monocytogenes*, kao i model za razlikovanje virulentnih sojeva bakterije od nevirulentnih sojeva. Proces invazije Caco-2 stanica, kao i unutarstanično umnožavanje bakterije, uključuje nekoliko koraka: ulazak u stanicu induciranom fagocitozom, bijeg iz endocitotske vakuole, kretanje unutarstaničnim prostorom korištenjem aktinskih niti inficirane stanice, te izlazak i prodiranje u susjedne stanice. Za izlazak iz fagosoma, bakterija koristi citolitički toksin listeriolizin (LLO) i fosfolipaze. Kiseli pH fagolizosoma potiče citolitičku aktivnost LLO-a. Kada bakterija izađe iz fagosoma u citoplazmu, neutralni pH citoplazme smanjuje citolitičku aktivnost LLO-a, što priprema teže oštećenje stanice domaćina, te osigurava neometano umnožavanje bakterije<sup>18,25</sup>.

U našim je pokusima pokazano da se *L. monocytogenes* umnožava u Caco-2 stanicama, ne ome-

tajući pritom preživljavanje niti funkciju samih stanica. To upućuje na činjenicu da su enterociti, kao prva crta stanica koje dolaze u kontakt s listerijom, zaštićeno mjesto koje osigurava neometano umnožavanje bakterije (neobjavljeni podaci).

Na korištenje murine listerioze kao modela za proučavanje stanične imunosti, prvi su ukazali Osebold i Sawyer davne godine 1957<sup>26</sup>. *L. monocytogenes* jest infektivna za miša, a ograničena infektivnost za laboratorijsko osoblje omogućuje izvođenje pokusa u uobičajenim laboratorijskim uvjetima. Uspostavljanje infektivnoga procesa zahtijeva kratko vremensko razdoblje – infekcija se može jednostavno reproducirati i kvantificirati uz jasnu povezanost između stupnja infektivnosti bakterije i odgovora domaćina. Na miševima moguće je izvođenje transfera stanica i genetske manipulacije, te se tako može iskoristiti prednost opsežna poznavanja genetike te životinjske vrste.

Dok je mnogobrojnim pokusima *in vivo* ustanovljeno da su stanice prirodne imunosti (makrofagi i neutrofili) ključne u kontroli rane faze infekcije bakterijom *L. monocytogenes*, specifična imunost posredovana limfocitima T ima ključnu važnost u rezoluciji prvoredne infekcije, te osigurava imunost na ponovnu infekciju. U antilisterijskoj obrani, presudnu važnost ima snažan Th1 odgovor pomoćničkih limfocita i produkcija proupalnih citokina, poput čimbenika nekroze tumora alfa (TNF- $\alpha$ , engl. tumor necrosis factor alpha), te interferona gama (IFN- $\gamma$ )<sup>27,28</sup>. Nakon prodora bakterije kroza crijevnu prepreku i ulaska u tkivo jetre i slezene, makrofagi, neutrofili i prirodne ubilačke stanice (engl. natural killer, NK) dolaze na mjesto infekcije. Inficirani makrofagi luče proupalne citokine kao što su TNF- $\alpha$  i interleukin-12 (IL-12), te nekoliko kemokina. IL-12 sudjeluje u diferencijaciji pomoćničkih limfocita T koji luče Th1 vrstu citokina kao što su IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  i IL-2. IFN- $\gamma$ , te zajedno s TNF- $\alpha$  dovodi do pune aktivacije makrofaga koji proizvode bakterioidne agense poput dušikova oksida (engl. nitric oxide, NO). U parenhimu inficiranih organa nastaju mikroapscesi tvoreni od različitih vrsta upalnih stanica<sup>24</sup>.

Dugo se smatralo da NK stanice imaju veliku važnost u antilisterijskoj imunosti. Naši rezultati dobiveni infekcijom C57BL/6 miševa s prethodnom deplecijom NK stanica, pokazuju da životinje bez funkcionalnih NK stanica nisu osjetljivije na infekciju u odnosu prema kontrolnoj skupini. NK stanice jesu stvaratelji IFN- $\gamma$  koji ima nenadomjestivu važnost u antilisterijskom odgovoru. Naša je

pretpostavka da pojedine druge upalne stanice (dendritične stanice,  $\gamma\delta$  limfociti T) također luče IFN- $\gamma$  u ranoj fazi infekcije, te tako nadomještaju važnost NK stanica (neobjavljeni podaci).

Iako je listerija niz godina u mnogobrojnim studijama *in vivo* korištena kao model unutarstaničnoga patogena za proučavanje mehanizama stanične imunosti, mehanizam patogeneze bolesti koju uzrokuje, nije u potpunosti razjašnjen. Od svih životinja korištenih u istraživanjima (štakori, zamorci, zečevi), miševi su najprikladniji uzorak za eksperimentalnu listeriozu, a u istraživanjima najčešće se koriste unutarvenski i unutarperitonealni postupci infekcije.

U proučavanjima mehanizama patogeneze bolesti, uobičajeno se nastoji uspostaviti infekcija mozga, za što se koristi izravna unutar moždana inokulacija bakterije<sup>29</sup>. Ipak, takvu postupku infekcije nedostaje oponašanje prirodnoga puta ulaska i diseminacije bakterije, čime se mogu previdjeti različite interakcije bakterije i imunološkoga sustava domaćina, do kojih dolazi prije prodora bakterije kroz krvno-moždanu prepreku.

Istražujući patogenezu listerioze na BALB/c miševima, uspostavili smo unutar-gastrični model infekcije, inokulirajući životinjama manji broj bakterija tijekom nekoliko uzastopnih dana. Unutar-gastrična primjena nižih doza bakterije tijekom triju uzastopnih dana smanjila je postotak smrtnosti u usporedbi s primjenom ekvivalentne jednostruke doze, dovodeći do produljene bakterijemije u inficiranih životinja. Našim je pokusima tako potvrđena mogućnost kumulativna učinka infektivne doze uzastopnom konzumacijom manjega broja bakterija, na što se posumnjalo nakon opisane bolničke epidemije listerioze<sup>12</sup>. U probavnome sustavu inficiranih životinja nisu uočene zamjetnije patološke pojave, a razvoj sustavne listerioze očito vao se se prisustvom velikoga broja bakterija u jetri, slezeni, plućima i u bubregu. Kliničkom slikom bolesti dominirali su nekrotični hepatitis i bronhopneumonija. U većine inficiranih životinja došlo je do prodora bakterija u mozak, te do razvoja meningoencefalitisa. Određujući lokalnu i sustavnu produkciju kemokina tijekom sustavne infekcije, ukazali smo na važnost lokalne produkcije kemokina MIP-1 $\alpha$  (engl. macrophage inflammatory protein, MIP) u nekroinflatornome odgovoru u jetri, te MCP-1 (engl. monocyte chemoattractant protein, MCP) u moždanome tkivu<sup>13</sup>.

U eksperimentalnome modelu mišje kongenitalne listerioze, istraživali smo promjene u imunološkom odgovoru gravidnih ženki na sustavnoj i



lokalnoj razini. U ženki inficiranih u petnaestome danu graviditeta, došlo je do smanjene sposobnosti eliminacije bakterije u odnosu prema kontrolnoj skupini (negravidne inficirane ženke), te do razvoja teškoga nekrotičnoga hepatitis<sup>30</sup>. Oštećenje imunološkog odgovora gravidne ženke, kako na sustavnoj tako i na lokalnoj razini, dovelo je do ubrzana umnožavanja bakterija u placenti i u fetalnim tkivima. Iako je nakon infekcije u placenti došlo do lokalne produkcije proupalnih medijatora TNF- $\alpha$  i IFN- $\gamma$ , izlučeni citokini nisu bili dovoljni za kontrolu infekcije, ali su pridonijeli zamjetnu povećanju postotka pobačaja u inficiranih gravidnih ženki<sup>31</sup>. Povećana osjetljivost na infekciju tijekom trudnoće, objašnjava se fiziološkom neravnotežom Th1/Th2 citokinskoga imunološkoga odgovora<sup>32</sup>, što je potvrđeno i našim pokusima. Naši rezultati u prilog su činjenici da je placenta djelomično imunološki zaštićena. Jednom kada dođe do bakterijske kolonizacije, taj organ postaje žarištem infekcije, a nedavno je objavljeno da neometano umnožavanje bakterija u placenti dovodi do ponovne diseminacije bakterija u jetru i druge organe<sup>33</sup>.

Odavna je poznata ključna važnost citokina TNF- $\alpha$  u antilisterijske imunološkome odgovoru domaćina. Nedostatak biološkog učinka TNF- $\alpha$ , može biti jedan od razloga češće pojave listerijskoga meningitisa u osoba oboljelih od Chronove bolesti i reumatoidnog artritisa, koje su liječene TNF- $\alpha$  neutralizirajućim monoklonskim protutijelima<sup>34,35</sup>. Naši pokusi s mišjom mladunčadi s nedostatkom receptora 1 TNF- $\alpha$ , pokazuju nužnost toga citokina i njegova receptora 1 u kontroli infekcije vrstom *L. monocytogenes*. Mišja mladunčad inficirana malim dozama atenuirane bakterije, pokazuje 100%-tnu smrtnost u usporedbi sa 100%-tnim preživljavanjem imunokompetentne mišje mladunčadi kontrolne skupine (neobjavljeni podaci).

## ZAKLJUČAK

Ubikvitarno saprofitno svojstvo listerije i asimptomatsko fekalno kliconoštvo, smanjuju vjerojatnost potpune eliminacije listerije. Kontrolnim higijensko-epidemiološkim mjerama nastoji se prekinuti fekalno-oralni ciklus kruženja listerije između namirnica – okoliša, te čovjeka – životinja. Dodatno, rana dijagnoza i bolje razumijevanje odnosa domaćina i bakterije, odnosno patogeneze listerioze, mogu pridonijeti prevenciji, unapređenju liječenja, te smanjenju često teških posljedica te bolesti.

## LITERATURA

1. Roberts AJ, Wiedmann M. Pathogen, host and environmental factors contributing to the pathogenesis of listeriosis. *Cell Mol Life Sci* 2003;60:904-18.
2. Thevenot D, Dernburg A, Vernozy-Rozand C. An updated review of *Listeria monocytogenes* in the pork meat industry and its products. *J Appl Microbiol* 2006;101:7-17.
3. FDA Approval of *Listeria*-specific Bacteriophage Preparation on Ready-to-Eat (RTE) Meat and Poultry Products. U. S. Food and Drug Administration, Washington D. C., 2006. (<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/opabacqa.html>.)
4. Schlech WF, Lavigne PM, Bortolussi RA, i sur. Epidemic listeriosis-evidence for transmission by food. *N Engl J Med* 1983;308:203-6.
5. de Valk H, Jacquet C, Goulet V, i sur. Surveillance of listeria infections in Europe. *Euro Surveill* 2005;10:251-5.
6. Uhitil S, Jakšić S, Petrak T, Medić H, Gumhalter-Karolyi L. Prevalence of *Listeria monocytogenes* and the other *Listeria* spp. in cakes in Croatia. *Food Control* 2004;15:213-6.
7. Kozačinski L, Hadžiosmanović M. The occurrence of *Listeria monocytogenes* in home-made dairy products. *Tierarztl Umsch* 2001;56:590-4.
8. Kozačinski L, Hadžiosmanović M, Zdolec N. Microbial quality of poultry meat on the Croatian market. *Vet arhiv* 2006;76:305-13.
9. Dalton CB, Austin CC, Sobel J, i sur. An outbreak of gastroenteritis and fever due to *Listeria monocytogenes* in milk. *N Engl J Med* 1997;336:100-5.
10. Frye DM, Zweig R, Sturgeon J, i sur. An outbreak of febrile gastroenteritis associated with delicatessen meat contaminated with *Listeria monocytogenes*. *Clin Infect Dis* 2002;35:943-9.
11. Ooi ST, Lorber B. Gastroenteritis due to *Listeria monocytogenes*. *Clin Infect Dis* 2005;40:1327-32.
12. Maijala R, Lyytikäinen O, Autio T, Aalto T, Haavisto L, Honkanen-Buzalski T. Exposure of *Listeria monocytogenes* within an epidemic caused by butter in Finland. *Int J Food Microbiol* 2001;70:97-109.
13. Bubonja M, Wraber B, Brumini G, Gobin I, Veljković D, Abram M. Systemic and local CC chemokines production in a murine model of *Listeria monocytogenes* infection. *Mediators Inflamm* 2006;2006(3):54202.
14. Gillespie IA, McLauchlin J, Grant KA, i sur. Changing pattern of human listeriosis, England and Wales, 2001 – 2004. *Emerg Infect Dis* 2006;12:1361-6.
15. McLauchlin J, Mitchell RT, Smerdon WJ, Jewell K. *Listeria monocytogenes* and listeriosis: a review of hazard characterisation for use in microbiological risk assessment of foods. *Int J Food Microbiol* 2004;92:15-33.
16. Hof H. *Listeria monocytogenes*: a causative agent of gastroenteritis? *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001;20:369-73.

17. Aureli P, Fiorucci GC, Caroli D, i sur. An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by *Listeria monocytogenes*. *N Engl J Med* 2000;342:1236-41.
18. Vazquez-Boland JA, Kuhn M, Berche P, i sur. *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:584-640.
19. Wing EJ, Gregory SH. *Listeria monocytogenes*: clinical and experimental update. *J Infect Dis* 2002;185 (Suppl 1):18-24.
20. Pattarino G, Arrigoni S, Grazioli R, De Palma A, di Natale B. A case of *Listeria Monocytogenes* meningitis in an immunocompetent infant. *Minerva Pediatr* 2006;58: 391-4.
21. Kompes G, Habrun B, Šoštarić B, Vicković I, Cvetnić Ž, Špičić S. Listeriozni pobačaj goveda – prikaz slučaja i usporedba dvaju načina izolacije uzročnika. *Vet stanica* 2005;36:146-53.
22. Sabočanec R, Čuljak K, Ramadan K, Naglić T, Šeol B, Matićić D. Incidence of listeriosis in farm chinchillas (*Chinchilla laniger*) in Croatia. *Vet arhiv* 2000;70: 159-67.
23. Kaufmann SH. Immunity to intracellular bacteria. *Annu Rev Immunol* 1993;11:129-63.
24. Pamer EG. Immune responses to *Listeria monocytogenes*. *Nat Rev Immunol* 2004;10:812-23.
25. Hamon M, Bierne H, Cossart P. *Listeria monocytogenes*: a multifaceted model. *Nat Rev Microbiol* 2006;6:423-34.
26. Osebold JW, Sawyer MT. Immunization studies on listeriosis in mice. *J Immunol* 1957;78:262-8.
27. Nakane A, Minagawa T, Kato K. Endogenous tumor necrosis factor (cachectin) is essential to host resistance against *Listeria monocytogenes* infection. *Infect Immun* 1988;56:2563-9.
28. Lara-Tejero M, Pamer EG. T cell responses to *Listeria monocytogenes*. *Curr Opin Microbiol* 2004;7:45-50.
29. Virna S, Deckert M, Lutjen S, i sur. TNF is important for pathogen control and limits brain damage in murine cerebral listeriosis. *J Immunol* 2006;177:3972-82.
30. Abram M, Schluter D, Vuckovic D, Wraber B, Doric M, Deckert M. Effects of pregnancy-associated *Listeria monocytogenes* infection: necrotizing hepatitis due to impaired maternal immune response and significantly increased abortion rate. *Virchows Arch* 2002;441: 368-79.
31. Abram M, Schluter D, Vuckovic D, Wraber B, Doric M, Deckert M. Murine model of pregnancy-associated *Listeria monocytogenes* infection. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003;35:177-82.
32. Barber EM, Fazzari M, Pollard JW. Th1 cytokines are essential for placental immunity to *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun* 2005; 73:6322-31.
33. Bakardjiev AI, Theriot JA, Portnoy DA. *Listeria monocytogenes* traffics from maternal organs to the placenta and back. *PLoS Pathog* 2006;2:e66.
34. Bowie VL, Snella KA, Gopalachar AS, Bharadwaj P. *Listeria* meningitis associated with infliximab. *Ann Pharmacother* 2004;38:58-61.
35. Slifman NR, Gershon SK, Lee JH, Edwards ET, Braun MM. *Listeria monocytogenes* infection as a complication of treatment with tumor necrosis factor alpha-neutralizing agents. *Arthritis Rheum* 2003;48:319-24.